

专论与综述

豆科根瘤非侵染细胞的形态结构研究

韩善华* 潘元翔**

(兰州大学生物系 730000)

豆科根瘤在生物固氮中占有特殊地位,其结构精细、复杂,是固氮细胞生物学研究的重要材料。虽然不同的豆科根瘤在形态结构方面并不完全相同,但基本结构颇为类似,都由几种不同组织组成。最外面是根瘤皮层,其中绝大多数是未特化的薄壁细胞,但也有少数特化了的细胞,如厚壁细胞和由根瘤皮层包围起来的维管束。皮层细胞内侧是一个体积很大、染色较深的中心区域(central region)。

在绝大多数豆科根瘤中,中心区域中的侵染组织(infected tissue)都由两种明显不同的细胞组成,一种是侵染细胞(infected cell),即被细菌侵染了的寄主细胞,另一种是非侵染细胞(uninfected cell),即未被细菌侵染的寄主细胞,也称间质细胞(interstitial cell)^[1,2],但以非侵染细胞一词使用更为普遍,间质细胞的叫法现在已很少见到。

过去,一般认为共生固氮只在侵染细胞中进行,非侵染细胞在根瘤中仅起了一种无足轻重的支持作用。因此,以前在研究根瘤时,总以侵染细胞为核心,更确切地讲,一般只研究侵染细胞,对非侵染细胞很少提及,或者是一带而过。最近越来越多的事实表明,非侵染细胞并非与根瘤固氮无缘。相反,它不仅参与了固氮,而且还在其中起了侵染细胞无法取代的重要作用^[3-6],至少在大豆、蚕豆和豇豆根瘤中是如此^[7-9]。

由于这一重要发现,学者们不得不对一向被轻视的非侵染细胞刮目相看。为此对近年来非侵染细胞的起源、分布规律和形态结构特征

等的研究概况作一介绍。而有关非侵染细胞的功能在此不作介绍,将另文综述。

一、非侵染细胞的起源

当根瘤菌进入相应的豆科植物的根部,形成侵入线并向前推进时,侵入线前方的皮层细胞由于受到刺激而开始细胞质增多、核变大和液泡体积减小。进而一些细胞出现分裂,形成分生组织,于是根瘤原基开始形成^[10]。这些来自根部皮层细胞的根瘤分生细胞与一般植物分生细胞的结构基本一样,体积小、近乎圆形、细胞质丰富、没有中央大液泡,但小液泡很多,核大且核仁明显^[2]。

过去认为,在根瘤发育早期,即当侵入线进入分生细胞,但又很少有细菌释放出来时,根瘤中心区域中的细胞在超微结构方面与分生细胞之间没有明显差异^[2]。但最近 Selker^[11]发现,根瘤分生细胞在刚刚接种根瘤菌一周的早期根瘤中就已开始分化,其主要特征是少数细胞液泡化程度显著增高。她认为,这种现象的产生可能与某些细胞将来不被细菌侵染有关。Truchet^[12]还发现,尽管中心区域中的非侵染细胞颇为相似,但它们的DNA水平并不相同。一种是2C,另一种是4C。因此他推测,这些细胞能否被细菌侵染可能与多倍体的产生有某种联系。更为有趣的是侵入线前进的路线似乎不是随机的,如 Newcomb^[13]在研究中观

* 现在四川师范大学生物系

** 90级研究生

察到,侵入线前进有一定的选择性或方向性。综上所述,我们不难看出在早期根瘤中,虽然分生细胞之间在显微水平,乃至亚显微水平上没有差别,或者差别不大,但在更细的水平(如分子水平)上可能已出现某些重大差异。这些差异或许对侵入线起了一种导航作用,使侵入线沿着它们指引的方向前进,在前进中释放出细菌并侵染所在细胞,而那些不与侵入线接触的细胞自然也就不被细菌侵染。于是,根瘤分生组织中的细胞便一分为二,一些细胞被细菌侵染变为侵染细胞,另一些细胞不被细菌侵染则发育为非侵染细胞。

就目前而论,虽然对少数分生细胞不被细菌侵染提出了种种推测,但对其内在机理迄今还不十分清楚。不过可以肯定,这是一个复杂的问题,绝非像过去认为那样,分生细胞不能被细菌侵染只是一个机会问题。

二、非侵染细胞在根瘤中的分布

非侵染细胞在根瘤中的分布随根瘤种类不同而异,即使在同一根瘤中也常因其发育程度和部位不同而有一定的差异。

在柱形根瘤(如苜蓿根瘤)中,侵染组织位于分生组织之后呈带状。由于该侵染组织没有明显的中心,因此非侵染细胞的分布没有一定的规律,只是相互随机混在一起^[14]。球形根瘤(如大豆根瘤)则与此不同,侵染组织位于根瘤中央,非侵染细胞不是随机地与侵染细胞相互混合,而是常常呈辐射状排列,镶嵌在侵染组织之中^[15]。

大豆根瘤与其他根瘤一样,非侵染细胞很少。统计表明,它平均只有侵染组织中细胞总数的25%左右^[1]。但在不同的报道中也不完全相同,如有人报道^[16],在无氮条件下培养的大豆根瘤侵染组织中,若按体积计算,侵染细胞占78%,非侵染细胞只有21%,其余1%为胞间隙。若按单位体积内的细胞数计算,前者为62%,后者为38%。在有氮培养时,情况就大不相同,此时的非侵染细胞所占体积显

著增加,由原来的21%上升到31%。但单位体积的细胞数却大大减少,由原来的38%下降到32%。

Newcomb^[18]进一步指出,非侵染细胞在侵染组织中所占百分比还与根瘤的种类有关,其中以无效根瘤中非侵染细胞所占比例最大。不仅如此,有人报道^[17,18],它还与细菌菌株和生长温度有着密切联系。资料表明,非侵染细胞在侵染组织中所占百分比变化很大,变化范围通常在9%到50%之间^[16]。

Selker^[11]在研究大豆根瘤中非侵染细胞的立体结构时发现,虽然非侵染细胞是分散存在于侵染细胞之间,但它们并不是完全分离的。它们常常相互连在一起,形成一个一个的平面(planets)和一条条的线(lines)。平面和线的一端开口于侵染组织表面,直接与根瘤内皮层细胞相接,另一端则汇聚于根瘤中心区域的中央,呈辐射状分布。在根瘤横切片中,这些平面和线一般较窄,也很不明显。然而在纵切片中却截然不同,不仅中心区域的中央部分有大量的非侵染细胞聚集,而且由此通向四周的由非侵染细胞组成的平面和线也较宽较粗,其中以通向根瘤基部和端部的面和线为最宽最粗。所以如此,很可能与非侵染细胞的功能有关^[11]。由于根瘤各部分功能或功能大小并非完全一样,故非侵染细胞在根瘤不同部分的含量和分布方式也存在着一定的差异。

三、非侵染细胞的形态结构特征

Tu^[1]在研究大豆根瘤时发现,非侵染细胞与侵染细胞的体积截然不同,前者一般只有后者的1/3至1/4。Hostak等^[19]在研究苜蓿根瘤时也看到同样现象,不过非侵染细胞一般不是侵染细胞的1/3至1/4,而是1/2至1/2.5。同时还发现,非侵染细胞的大小并不是恒定不变的,它们常因发育程度不同而异。在侵染组织前端,细胞体积较小,然后逐渐增加,直到侵染组织中部方才停止。但从侵染组织中部到后部基本维持不变。在后部的非侵染细胞出现

衰老后, 它的体积又开始变大。不过这种变大可能不是细胞正常生长的结果, 而是由于细胞局部解体, 导致水肿所致^[20]。非侵染细胞不管它属于哪种根瘤, 在发育中有何变化, 与同种根瘤中发育程度相同的侵染细胞相比, 它的体积总是小得多, 无一例外。

以前认为, 大豆根瘤中的非侵染细胞都是等径的。但是最近的研究表明, 这种观点未必完全正确, 至少不够全面。在豆科根瘤中, 除了近乎等径的非侵染细胞外, 还有许多的非侵染细胞是细长的, 这些细胞一般存在于由它们组成的辐射面和线上。在辐射面上, 细胞的长轴通常与根瘤的纵轴一致。在辐射线上, 细胞的长轴总与线的长轴相吻合^[11]。对于非侵染细胞变长的机理有各种不同的解释, 但多数学者认为, 这不仅与细胞功能有关, 而且也可能与细胞中含有较高的生长素浓度有着密切的联系^[21-22]。

豆科根瘤中的非侵染细胞虽在不同根瘤中其形状、大小各不相同, 但对典型的非侵染细胞而言, 在结构方面却有许多共同之处。首先是它们不含细菌, 其次是它们都有一个中央大液泡, 液泡周围有一层不厚的细胞质, 细胞质中除有一个具有显著核仁的大核外, 质体尤为显目。它体积大、数量多、含有大而圆的淀粉粒。淀粉粒可以是一个, 也可以是多个, 并常常相互聚集在一起。这些淀粉粒与侵染细胞中质体的淀粉粒不同, 比较稳定, 在根瘤发育中几乎没有什么大的变化。不仅如此, 质体的形状也多种多样, 有棱形的, 也有变形虫形的, 一般都不紧靠细胞壁。质体的形状既与根瘤品种有关, 又与非侵染细胞发育有一定的联系。线粒体不多, 体积较小, 嵴也不丰富。高尔基体数量更少, 分泌泡偶而可见。但非侵染细胞中的内质网很多, 而且经常膨大形成较大的槽库, 故常呈管状。这种现象在大豆根瘤中尤为明显。非侵染细胞中也有许多自由核糖体和多聚核糖体, 但与附近的侵染细胞相比, 它明显较少^[2, 13, 23-26]。

Webb等^[27]在研究豇豆根瘤时发现, 非侵染细胞另一显著特点是它含有大量的过氧化物酶体或微体(peroxisome or microbody)。这种结构的电子密度较高, 但很不均匀, 基质中有一些大小不同的颗粒状物质。虽然大豆根瘤非侵染细胞中也有类似结构, 但它与此不同, 基质没有颗粒状物质, 只有呈片的晶状结构。非侵染细胞中过氧化物酶体的分布多存在于靠近侵染细胞附近的部位。有时在侵染细胞中也可观察到过氧化物酶体, 但数量很少, 体积很小, 而且基质的电子密度也很低。最近已经证明, 过氧化物酶体的功能主要与脲化物的产生有关^[2]。

非侵染细胞的第三大特点是它的细胞壁。在非侵染细胞壁上, 胞间连丝非常丰富, 其频率与相邻细胞的种类有关。观察表明, 当非侵染细胞与非侵染细胞相邻时, 它们之间的细胞壁上有大量的胞间连丝出现, 其频率高达 $0.46 \mu\text{m}^{-1}$ 。若非侵染细胞不是与非侵染细胞相邻, 而是靠近侵染细胞, 它们之间的细胞壁虽也有胞间连丝存在, 但数量显著减少, 其频率只有 $0.28 \mu\text{m}^{-1}$ 。不仅如此, 非侵染细胞壁上胞间连丝出现的频率还与非侵染细胞壁的形状有着紧密的联系。当非侵染细胞不是圆形而呈细长形时, 这种现象更为明显。此时胞间连丝常常大量地位于非侵染细胞的端壁上, 相反, 它的侧壁上却为数甚少^[11]。这种现象的产生无疑有利于非侵染细胞之间形成畅通无阻的通道, 增强中心组织和皮层细胞之间的联系, 促进侵染细胞与非侵染细胞间固氮产物的转移。

非侵染细胞壁上常有许多纹孔(pit field), 有趣的是这些纹孔的分布也与相邻细胞种类有关。观察表明, 它们通常只出现在非侵染细胞与非侵染细胞之间的壁上和非侵染细胞与侵染细胞之间的壁上, 在侵染细胞与侵染细胞之间的壁上却十分少见^[11]。

如前所述, 在豆科根瘤中, 许多非侵染细胞呈细长形, 它与相邻细胞间壁的长短也与细胞种类有关。当非侵染细胞与非侵染细胞相互

贴在一起时,它们之间连接壁较短,平均只有919 μm 。若是非侵染细胞与侵染细胞在一起,它们之间相连接的壁则较长,通长是1135 μm 左右。然而,侵染细胞与侵染细胞靠在一块时,它们之间相连接的壁就变得很短,平均只有637 μm ^[11]。据认为,两个细胞之间的相连壁的长短可能与细胞之间的联系有关。由此可见,非侵染细胞与侵染细胞不同,有其自己的形态结构特征,而这些特征的存在则是实现其功能的保证。

摘 要

非侵染细胞是豆科根瘤中一种非常重要的细胞,它不仅参与了根瘤共生固氮,而且还在其中起了极为重要的作用,这些作用的发挥与其具有与此相适应的形态结构和分布有关。非侵染细胞体积小、数量少,分散于侵染细胞之间。在大豆根瘤中,它们彼此相连接,形成一条条的线和一个个的面,由根瘤中心向四周辐射,直至与皮层细胞相接,其作用可能与根瘤中心组织和皮层细胞之间的物质运输,特别是固氮产物的输出密切相关。非侵染细胞与侵染细胞之间的主要差异在于它不含细菌,中央有一个大液泡,细胞质中含有大量的过氧化物酶体和许多膨大的管状内质网,而且细胞壁上还有丰富的胞间连丝和纹孔,但主要存在于非侵染细胞与非侵染细胞之间的连接壁上。

参 考 文 献

- [1] Tu, J. C., 1975, *Phytopathology*, 65: 447.
- [2] Newcomb, E. H. et al., 1985, *Protoplasma*, 125: 1.
- [3] Bergman, H. et al., 1983, *EMBO. J.* 2: 2333.
- [4] Vanden Bosch, K. A. and E. H. Newcomb, 1986, *Planta*, 167: 425.
- [5] Kaneko, Y. and E. H. Newcomb, 1987, *Protoplasma*, 140: 1.
- [6] VandenBosch, K. A. and E. H. Newcomb, 1988, *Planta*, 175: 422.
- [7] Herriedge, D. F. et al., 1978, *Plant Physiol.*, 62: 495.
- [8] Sprent, J. I., 1980, *Plant Cell Environ.*, 3: 35.
- [9] Reynolds, P. H. S. et al., 1982, *Plant Physiol.*, 69: 1334.
- [10] Turgeon, B. G. and W. D. Bauer, 1985, *Planta.*, 163: 328.
- [11] Selker, J. M. L., 1988, *Protoplasma*, 147: 178.
- [12] Truchet, G., 1978, *Ann. Sci. Nat. Bot.*, 19: 3.
- [13] Newcomb, W., 1981, *International Review of Cytology, Supplement*, 13: 247.
- [14] Tu, J. C., 1977, *Can. J. Bot.*, 55: 35.
- [15] Bergersen, F. J. and D. J. Goodchild, 1973, *Aust. J. Biol. Sci.*, 26: 729.
- [16] Selker, J. M. L. and E. H. Newcomb, 1985, *Planta.*, 165: 446.
- [17] Roughley, R. J., 1970, *Ann. Bot.*, 34: 631.
- [18] Wood, S. M. et al., 1985, *Can. J. Bot.*, 63: 43.
- [19] Hostak, M. S. et al., 1987, *Can. J. Bot.*, 65: 1108.
- [20] 韩善华, A. F. Yang, 1988, *植物学报*, 30: 124.
- [21] Pate, J. S., 1958, *Aust. J. Biol. Sci.*, 11: 496.
- [22] Kefford, N. P. et al., 1960, *Aust. J. Biol. Sci.*, 13: 456.
- [23] Newcomb, W., 1976, *Can. J. Bot.*, 54: 2163.
- [24] 韩善华, A. F. Yang, 1987, *微生物学报*, 27: 217.
- [25] 韩善华, A. F. Yang, 1987, *实验生物学报*, 20: 13.
- [26] 韩善华, 1988, *微生物学通报*, 15 (1): 38.
- [27] Webb, M. A. and E. H. Newcomb, 1987, *Planta*, 172: 162.